# 应用种特异性 PCR 技术快速鉴定辣椒实蝇

黄 振[1], 陈韶萍[2,3], 谢 婧[1], 郭琼霞[2,*]

(1. 福州机场出入境检验检疫局, 福州 350209; 2. 福建出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 福州 350001;
3. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002)

**摘要:**【目的】辣椒实蝇 *Bactrocera latifrons* (Hendel)为我国重要的检疫性有害生物,其寄主范围广泛,危害严重。由于传统鉴定方法受到饲养周期、饲养条件、虫态等因素的限制,使得果蔬进出口贸易通关速度、疫情快速鉴定受到较大的影响,因此迫切需要开发关于实蝇的快速鉴定识别的技术。【方法】本研究基于 mtDNA COI 序列设计了一对能够准确鉴定辣椒实蝇的种特异性引物 FL680 和 RL1057,选用辣椒实蝇作为阳性对照,选用番石榴实蝇 *B. correcta* (Bezzi)、桔小实蝇 *B. dorsalis* (Hendel)和颜带实蝇 *B. cilifer* (Hendel)等 20 种实蝇作为阴性对照,进行 PCR 扩增并将 PCR 产物进行电泳检测。【结果】仅目标种辣椒实蝇能够扩增出清晰且单一的约 378 bp 的条带,其余实蝇种类均未出现条带。将本实验建立的种特异性 PCR(SS-PCR)鉴定方法应用于实际检疫工作中并得到了验证,表明该方法具有强的种特异性。【结论】本文提出辣椒实蝇快速鉴定识别技术可应用于实蝇的疫情监测和口岸的检疫检测工作。

**关键词:** 辣椒实蝇; 种特异性引物; 种特异性 PCR; mtDNA COI; 快速鉴定

**中图分类号:** Q966　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2015)04-0460-07

# Rapid identification of *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) by using species-specific PCR technique

HUANG Zhen[1], CHEN Shao-Ping[2,3], XIE Jing[1], GUO Qiong-Xia[2,*] (1. Fuzhou Airport Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Fuzhou 350209, China; 2. Inspection and Quarantine Center of Fujian Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Fuzhou 350001, China; 3. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:**【Aim】*Bactrocera latifrons* (Hendel) is one of the most important plant quarantine pests in plant production and trade, and it has wide host range and causes serious damage. Traditional identification methods are limited by such factors as raising period, feeding conditions and developmental stage, thus limiting the clearance rate of customs and quick identification of infestation situation of fruits. For this reason, a rapid identification technique for fruit fly species is desperately needed.【Methods】A pair of primers, FL680 and RL1057, was designed and synthesized based on the mtDNA COI sequence. For the PCR amplification and gel electrophoresis, *B. latifrons* (Hendel) was chosen as the positive control and other 20 species of fruit flies including *B. correcta* (Bezzi), *B. dorsalis* (Hendel) and *B. cilifer* (Hendel) were used as the negative controls.【Results】A clear and single 378 bp band was amplified only from *B. latifrons*, but not from the other 20 fruit flies. The SS-PCR identification method established in this experiment was applied and verified in inspection and quarantine, indicating that this method has high species specificity.【Conclusion】The rapid identification method developed here for *B. latifrons* can be applied in infestation monitoring and quarantine surveillance of fruit flies in ports.

**Key words:** *Bactrocera latifrons*; species-specific primers; species-specific PCR (SS-PCR); mtDNA COI; rapid identification

辣椒实蝇 *Bactrocera latifrons* (Hendel)是一种重要的检疫性害虫,属双翅目(Diptera)实蝇科(Tephritidae)果实蝇属 *Bactrocera* 果实蝇亚属 *Bactrocera*。辣椒实蝇原产于南亚和东南亚,目前主

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2011J01066, 2012J01061); 福建出入境检验检疫局科技项目(FK2010-27, FK2011-56)
作者简介: 黄振, 男, 1985 年生, 福建莆田人, 博士研究生, 农艺师, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: 102768560@qq.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: gqxfjciq@126.com
收稿日期 Received: 2014-12-11; 接受日期 Accepted: 2015-02-28

要分布于印度、马来西亚、巴基斯坦、斯里兰卡、泰国、老挝、中国大陆部分地区和台湾地区等，近年来又在夏威夷、日本、汤加及非洲的部分区域定殖（Liquido *et al*., 1994; Peck and Mcquate, 2004; Mwatawala *et al*., 2007; Rwomushana *et al*., 2008; Mwatawala *et al*., 2010; Meeyen *et al*., 2014）。在中国主要分布于台湾及云南畹町和瑞丽（梁广勤等，1989），福建厦门鼓浪屿（张清源和林振基，1996），北京（梁静波等，1995），广东广州（古菊兰，1996）和珠海（吴先佑等，2003），以及湖北武汉（王振华等，2008）等地区。辣椒实蝇寄主范围广泛，其寄主包括辣椒、茄子、番茄、黄瓜、蛇瓜、苹果、香蕉、洋桃、咖啡、番石榴、柠檬、荔枝、芒果和甜橙等各种果蔬，其中对辣椒及茄属植物危害最为严重（黄振和黄可辉，2009）。根据有害生物危险性评价的指标体系对辣椒实蝇进行定量风险分析，认为辣椒实蝇属于高危险性的有害生物（黄振和黄可辉，2008）。

近年来，由于分子生物学技术能解决传统的形态学分类方法难以解决的问题且不受虫态的影响，越来越多的分子生物学技术被运用于昆虫的鉴定中（黄可辉等，2005；王振华等，2009）。在进出境的果蔬检疫中经常截获到各种不同的实蝇幼虫、卵或蛹，甚至为头、胸、翅、足等残体，给实蝇种类的准确鉴定造成了困难。对于幼虫的分类鉴定要比成虫困难得多，通常是将幼虫在室内饲养为成虫后进行分类鉴定，而这需要花费较长的时间，给果蔬进出口贸易的通关速度造成严重影响；而对于残体则是无法对其进行正确的识别。因此，迫切需要发展有关于实蝇的快速鉴定识别的技术。

种特异性 PCR（species-specific PCR, SS-PCR）技术，即在设计目标物种的引物时必须充分考虑引物的特异性，使得在扩增未知模板时能够根据目标片段条带的有无就能把目标种类与其他种类鉴别开来。本研究提供了一种采用特异性引物快速鉴定辣椒实蝇的方法，能够准确及时对截获的疑似辣椒实蝇的卵、蛹、幼虫、成虫及残体等进行鉴定，建立了一种快速鉴定辣椒实蝇的方法。

本研究尝试利用 NCBI 数据库以及 Bioedit，Primer-Premier 5.0 和 Oligo 6.44 等相关软件来设计能够准确鉴定辣椒实蝇的种特异性引物，利用 20 种其他种类的实蝇进行引物特异性的验证，同时测试了本研究所建立的 SS-PCR 快速鉴定辣椒实蝇的方法的灵敏度，并将该方法应用于实际检疫工作。

## 1　材料与方法

### 1.1　供试虫源

供试实蝇均为我国进境植物检疫性有害生物种类，供试标本为在我国实蝇监测调查中诱集，边境及邻国监测截获以及进境水果检验检疫中截获，包括辣椒实蝇、番石榴实蝇 *B. correcta*（Bezzi）、桔小实蝇 *B. dorsalis*（Hendel）、颜带实蝇 *B. cilifer*（Hendel）、锈实蝇 *B. rubigina*（Wang & Zhao）、瑞丽果实蝇 *B. ruiliensis* Wang, Long *et* Zhang、瘤胫实蝇 *B. tuberculata*（Bezzi）、杨桃实蝇 *B. carambolae* Drew & Hancock、普通果实蝇 *B. caudate*（Fabricius）、瓜实蝇 *B. cucurbitae*（Coquillett）、南瓜实蝇 *B. tau*（Walker）、具条实蝇 *B. scutellata*（Hendel）、近黑颜实蝇 *B. parater*（Zhao & Lin）、黑膝实蝇 *B. scutellaris*（Bezzi）、滇寡鬃实蝇、*B. modica*（Hardy）、何氏华实蝇 *B. hochii*（Zia）、枣实蝇 *Carpomya vesuviana* Costa、瓜棍腹实蝇 *Dacus longicornis* Wiedemann、腿端黑实蝇 *B. atrifemur* Drew & Hancock、黑颜实蝇 *B. diaphora* Coquillett 和五指山实蝇 *B. wuzhishana* Lin *et* Yang 共 21 种。

### 1.2　DNA 的提取和 DNA 质量检测

采用 OMEGA E. Z. N. A.$^{TM}$ Insect DNA Kit 试剂盒法提取 DNA。具体步骤为：挑选供试实蝇备用，其中选用的辣椒实蝇、番石榴实蝇、桔小实蝇、南瓜实蝇、具条实蝇和瓜实蝇的个体数量为 40～50 头，其他的实蝇个体数量为 5～10 头。在供试的实蝇中取整头成虫，或是成虫身体部分（如足 1 条或翅 1 片），或是蛹、幼虫，置于 2 mL 离心管中，加入适量液氮充分研磨，然后根据试剂盒的说明书操作步骤进行，最后将得到的 DNA 样品保存于 -20℃ 备用。

利用通用引物 LCO1490 和 HCO2198 来进行实蝇样本 DNA 的质量检测，PCR 反应在定量梯度 PCR 仪上进行，反应体系：2 × EasyTaq PCR SuperMix（天根生化科技有限公司）12.5 μL，引物各 1 μL，模板各 2 μL，加 $ddH_2O$ 至总体积 25 μL；反应条件为：94℃ 5 min；94℃ 40 s，48℃ 30 s，72℃ 1 min，35 个循环；最后延伸 10 min。分别提取 5 μL PCR 产物在含 DNA 染色剂的 1.5% 的琼脂糖凝胶多功能电泳仪上电泳 30 min（120 V），利用凝胶成像分析仪检测是否扩增出预期大小的目标片段，拍摄并记录结果。通用型引物 LCO1490 和 HCO2198 的序列分别为：

LCO1490：5′-GGTCAACAAATCATAAAGATATT

G-3′;

HCO2198: 5′-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3′。

### 1.3 引物的设计

通过 NCBI 数据库查找辣椒实蝇已公布的登录序列并进行比较分析,最后选定登录号为 FJ903490 的 mtDNA COI 基因序列,利用 NCBI 数据库中提供 BLAST 程序检查同源序列,最后选定昆士兰实蝇 *B. tryoni* (Froggatt) HQ130030.1, 番石榴实蝇 *B. correcta* (Bezzi) JX456552.1, 木瓜实蝇 *B. papayae* Drew & Hancock DQ917578.1, 桔小实蝇 *B. dorsalis* (Hendel) KF318524.1, 菲律宾实蝇 *B. philippinensis* Drew & Hancock KF318599.1, 入侵果实蝇 *B. invadens* Drew KF318609.1 和杨桃实蝇 *B. carambolae* Drew & Hancock EF 014414.1 序列,下载这些序列的 FASTA 格式,先利用 Bioedit 进行序列比对,然后根据 SNP 位点,利用 Primer-Premier 5.0 人工设计引物,再利用 Oligo 6.44 对引物进行评价,最后利用 NCBI 数据库中提供的 Primer-BLAST 程序检查同源序列。

### 1.4 引物的种特异性的测试

选用除辣椒实蝇除外的其他 20 种实蝇作为阴性对照,辣椒实蝇为阳性对照,验证本实验所设计引物的种特异性。SS-PCR 在定量梯度 PCR 仪上进行,反应体系:2 × EasyTaq PCR SuperMix 12.5 μL, 引物各 1 μL,模板各 2 μL,加 $ddH_2O$ 至总体积 25 μL;反应条件为 94℃ 5 min;94℃ 40 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,25 个循环;最后 72℃ 延伸 8 min;分别提取 5 μL PCR 产物在含 DNA 染色剂的 1.5% 的琼脂糖凝胶多功能电泳仪上电泳 30 min (120 V),利用凝胶成像分析仪检测是否扩增出预期大小的目标片段,拍摄并记录结果。

### 1.5 引物的灵敏度的测试

利用核酸蛋白分析仪测试提取的辣椒实蝇 DNA 模板的浓度。将辣椒实蝇 DNA 模板按 $10^{-1}$, $10^{-2}$ 和 $10^{-3}$ 倍梯度稀释,然后使用种特异性引物 FL680 和 RL1057 进行 PCR 扩增,来验证该检测方法的灵敏度。

### 1.6 SS-PCR 快速鉴定辣椒实蝇的应用验证

利用由福州机场出入境检验检疫局从进境旅客携带的水果中截获的辣椒实蝇(为多批次截获并已饲养到成虫及经过专家形态鉴定复核)的 DNA 为模板,使用种特异性引物 FL680 和 RL1057 进行 PCR 扩增,来验证该方法的稳定性与准确性。

## 2 结果

### 2.1 DNA 质量检测结果

利用通用引物 LCO1490 和 HCO2198 对提取的实蝇 DNA 模板进行 PCR 扩增。结果表明,所有的实蝇 DNA 均能扩增出单一且清晰的,长度约 700 bp 的目标条带(图 1)。

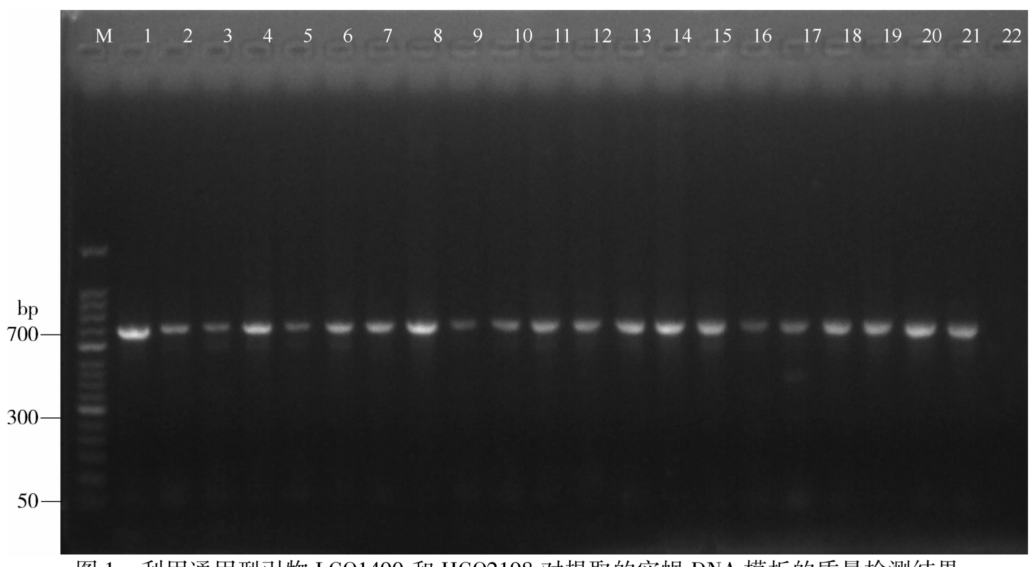



图 1 利用通用型引物 LCO1490 和 HCO2198 对提取的实蝇 DNA 模板的质量检测结果

Fig. 1 Quality inspection results of the extracted DNA templates from fruit flies by using universal primers LCO1490 and HCO2198

M: 50 bp DNA Ladder; 1: 番石榴实蝇 *Bactrocera correcta*; 2: 桔小实蝇 *B. dorsalis*; 3: 颜带实蝇 *B. cilifer*; 4: 锈实蝇 *B. rubigina*; 5: 瑞丽果实蝇 *B. ruiliensis*; 6: 瘤胫实蝇 *B. tuberculata*; 7: 杨桃实蝇 *B. carambolae*; 8: 普通果实蝇 *B. caudate*; 9: 瓜实蝇 *B. cucurbitae*; 10: 辣椒实蝇 *B. latifrons*; 11: 南瓜实蝇 *B. tau*; 12: 具条实蝇 *B. scutellata*; 13: 近黑颜实蝇 *B. parater*; 14: 黑膝实蝇 *B. scutellaris*; 15: 滇寡鬃实蝇 *B. modica*; 16: 何氏华实蝇 *B. hochii*; 17: 枣实蝇 *Carpomya vesuviana*; 18: 瓜棍腹实蝇 *Dacus longicornis*; 19: 腿端黑实蝇 *B. atrifemur*; 20: 黑颜实蝇 *B. diaphora*; 21: 五指山实蝇 *B. wuzhishana*; 22: $ddH_2O$.

## 2.2　引物的选择

利用 Bioedit 对已下载的 FJ903490，HQ130030.1，JX456552.1，DQ917578.1，KF318524.1，KF318599.1，KF318609.1 和 EF014414.1 等序列进行 ClustalW 多重比对，通过筛选最终选择的种特异性引物 FL680 和 RL1057（图 2）。引物由英潍捷基（上海）贸易有限公司合成。特异性引物 FL680 和 RL1057 的序列分别为：

FL680：　5′-TTTGGGCACCCAGAAGTCTACATT-3′；

RL1057：　5′-TACAGACGAGTTAGCGAGAACA-3′。

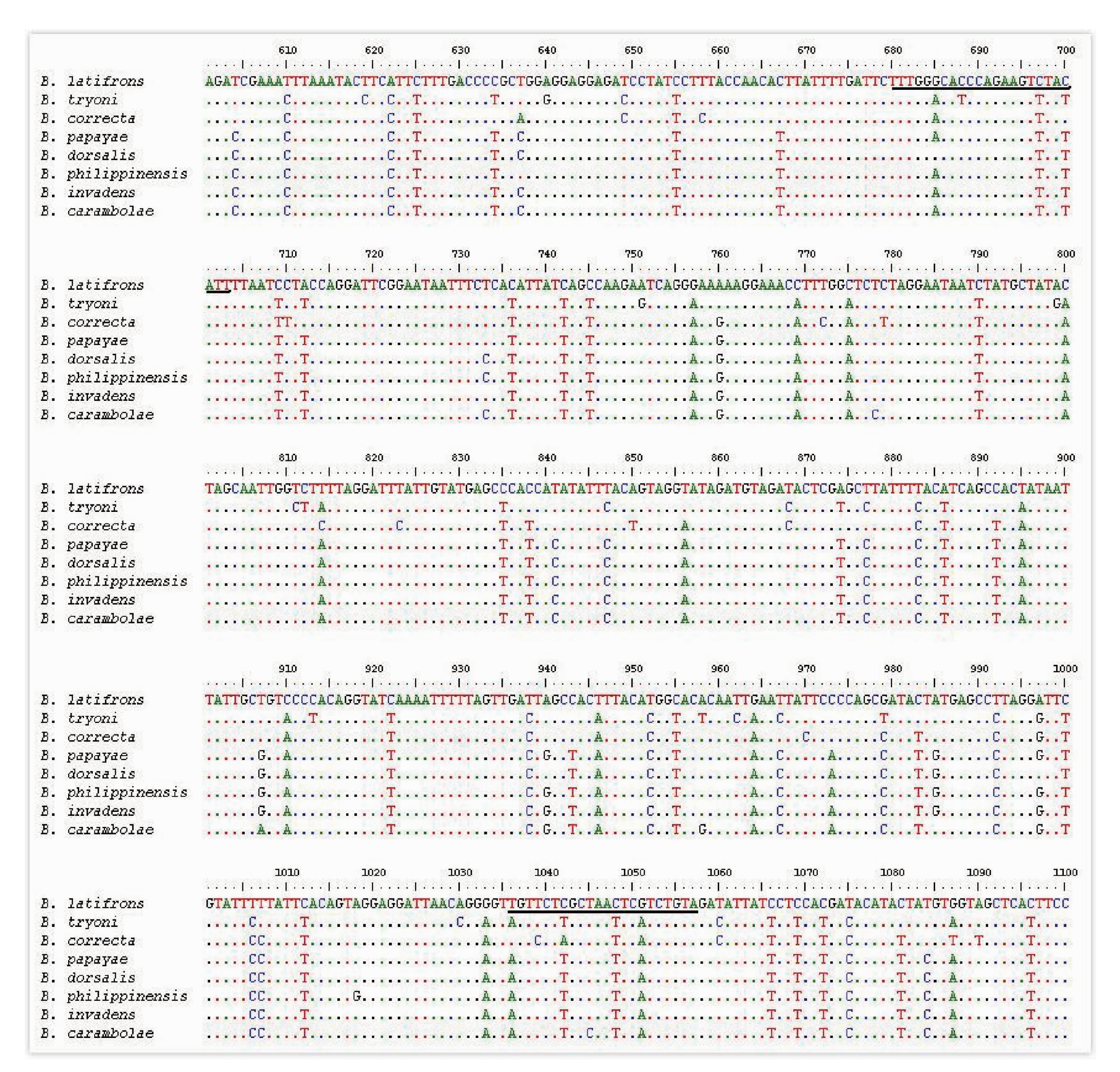



图 2　8 种果实蝇 mtDNA COI 基因序列片段的 ClustalW 多重比对结果

Fig. 2　Multiple sequence comparisons of mtDNA COI gene fragments of 8 fruit flies using ClustalW program

种特异性引物 FL680 和 RL1057 的序列用下划线标出。Sequences of the species specific primers FL680 and RL1057 are underlined. 果实蝇及其 mtDNA COI 基因序列 GenBank 登录号 Fruit fly species and the GenBank accession numbers of their mtDNA COI gene sequences：*B. latifrons*：辣椒实蝇 *Bactrocrea latifrons*，FJ903490；*B. tryoni*：昆士兰实蝇 *B. tryoni*，HQ130030.1；*B. correcta*：番石榴实蝇 *B. correcta*，X456552.1；*B. papayae*：木瓜实蝇 *B. papayae*，DQ917578.1；*B. dorsali*：桔小实蝇 *B. dorsalis*，KF318524.1；*B. philippinensis*：菲律宾实蝇 *B. philippinensis*，KF318599.1；*B. invaden*：入侵果实蝇 *B. invadens*，KF318609.1；*B. carambolae*：杨桃实蝇 *B. carambolae*，EF 014414.1.

## 2.3　引物的种特异性

结果显示仅辣椒实蝇扩增出清晰且单一的约 378 bp 的条带，其他实蝇种类均未出现目标条带。重复实验 3 次，结果均一致，表明该实验设计的种特

异性引物 FL680 和 RL1057 具有较强的特异性及稳定性(图 3)。

将实验所得到的 PCR 产物送到英潍捷基(上海)贸易有限公司进行测序,将所得到的序列提交 NCBI 数据库进行 BLAST,结果表明该段序列与数据库中的辣椒实蝇序列具 100% 的一致性。

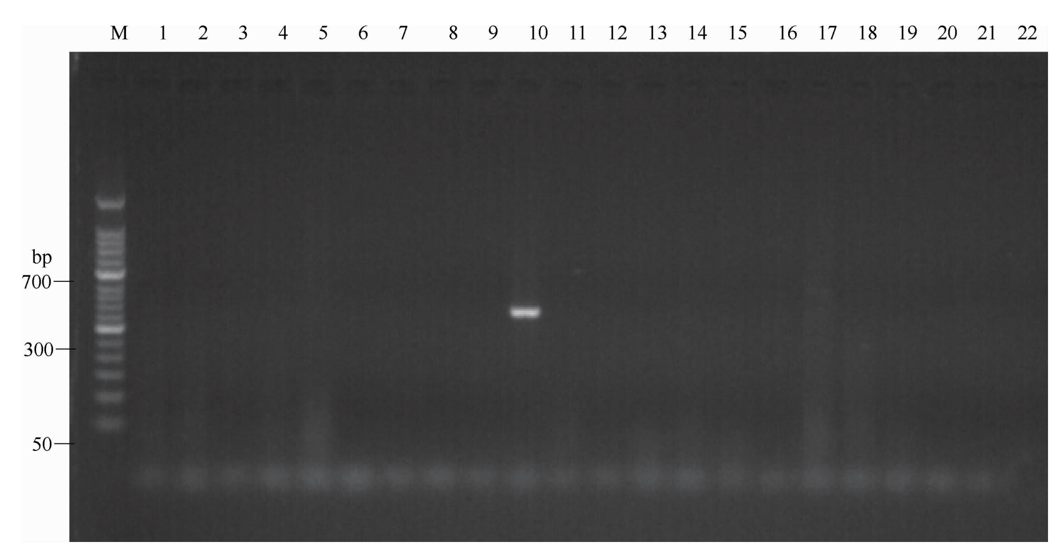



图 3 引物 FL680 和 RL1057 的种特异性验证

Fig. 3 Species specificity verification of the primers FL680 and RL1057

M: 50 bp DNA Ladder; 1: 番石榴实蝇 *Bactrocera correcta*; 2: 桔小实蝇 *B. dorsalis*; 3: 颜带实蝇 *B. cilifer*; 4: 锈实蝇 *B. rubigina*; 5: 瑞丽果实蝇 *B. ruiliensis*; 6: 瘤胫实蝇 *B. tuberculata*; 7: 杨桃实蝇 *B. carambolae*; 8: 普通果实蝇 *B. caudate*; 9: 瓜实蝇 *B. cucurbitae*; 10: 辣椒实蝇 *B. latifrons*; 11: 南瓜实蝇 *B. tau*; 12: 具条实蝇 *B. scutellata*; 13: 近黑颜实蝇 *B. parater*; 14: 黑膝实蝇 *B. scutellaris*; 15: 滇寡鬃实蝇 *B. modica*; 16: 何氏华实蝇 *B. hochii*; 17: 枣实蝇 *Carpomya vesuviana*; 18: 瓜棍腹实蝇 *Dacus longicornis*; 19: 腿端黑实蝇 *B. atrifemur*; 20: 黑颜实蝇 *B. diaphora*; 21: 五指山实蝇 *B. wuzhishana*; 22: $ddH_2O$.

### 2.4 引物的灵敏度

利用核酸蛋白分析仪测试提取的辣椒实蝇 DNA 模板的浓度为 25.21 ng/μL。取不同浓度的 DNA 模版进行最低检出阈值的测定,随着模版浓度的降低,扩增出的条带逐渐减弱,在稀释 $10^{-2}$ 倍后仍有明显条带,说明该方法具有较高的灵敏度(图 4)。

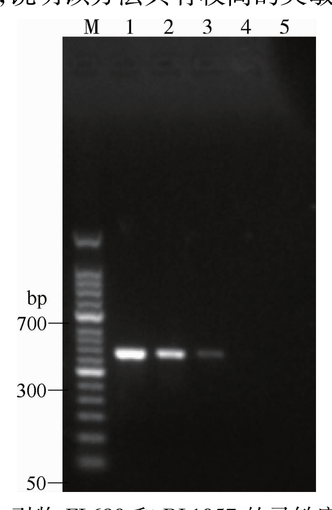



图 4 引物 FL680 和 RL1057 的灵敏度验证

Fig. 4 Sensitivity verification of the primers FL680 and RL1057

M: 50 bp DNA Ladder; 1: $25.21 \times 10^{0}$ ng/μL DNA; 2: $25.21 \times 10^{-1}$ ng/μL DNA; 3: $25.21 \times 10^{-2}$ ng/μL DNA; 4: $25.21 \times 10^{-3}$ ng/μL DNA; 5: $ddH_2O$.

### 2.5 SS-PCR 快速鉴定辣椒实蝇的应用验证

截获的实蝇标本均有目标条带,结果表明,分子生物学鉴定结果与形态学鉴定结果一致,该方法具有较好的稳定性,可以应用于辣椒实蝇的实际鉴定工作(图 5)。

## 3 讨论

引物的特异性是本实验成功的关键,因为 mtDNA COI 相对保守,容易被通用引物扩增同时又有足够的特异性能够将不同物种区分开,所以选用 mtDNA COI 基因作为标记基因,随后选择了与辣椒实蝇序列一致性达 86% 以上的昆士兰实蝇、番石榴实蝇、木瓜实蝇、桔小实蝇、菲律宾实蝇、入侵果实蝇以及杨桃实蝇等的同源序列进行引物的设计,确保了所设计的引物的特异性。本实验选用番石榴实蝇、桔小实蝇、颜带实蝇等 20 种实蝇(包括 *Bactrocera*, *Carpomya* 和 *Dacus* 3 个属以及果实蝇属的 *Bactrocera*, *Zeugodacus*, *Sinodacus* 和 *Asiadacus* 4 个亚属)作为阴性对照,辣椒实蝇作为阳性对照,利用本实验设计的引物 FL680 和 RL1057 进行 PCR 扩

增,仅辣椒实蝇能特异性并稳定地扩增出长度约 378 bp 的清晰且单一的目标条带,其他实蝇种类均无条带出现,进一步验证了本实验所设计引物 FL680 和 RL1057 的特异性。然而当口岸仅发现卵或是残体时,即只能提取到微量 DNA 时,SS-PCR 检测鉴定方法的灵敏度就至关重要了。本实验所建立的方法具有较高的灵敏度,能检测到的 DNA 模板浓度可低至 $2.521 \times 10^{-1}$ ng/μL。同时该 SS-PCR 检测鉴定方法在实际检疫工作中也得到应用验证。

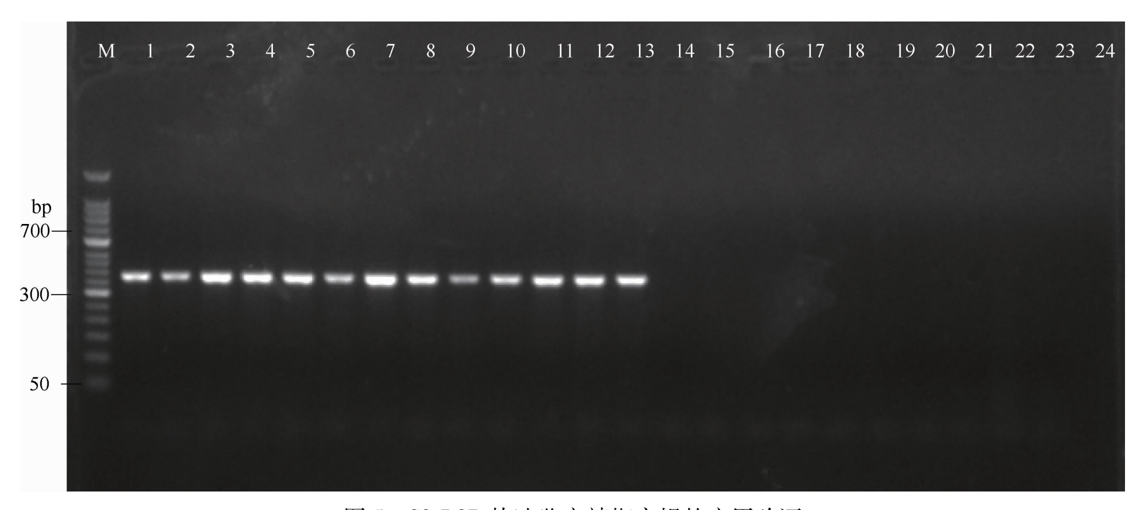



图 5　SS-PCR 快速鉴定辣椒实蝇的应用验证

Fig. 5　Application verification of SS-PCR for rapid identification of *Bactrocera latifrons*

M: 50 bp DNA Ladder; 1 – 2: 泰国辣椒实蝇 *B. latifrons* from Thailand; 3 – 5: 老挝辣椒实蝇 *B. latifrons* from Laos; 6 – 8: 马来西亚辣椒实蝇 *B. latifrons* from Malaysia; 9 – 10: 印度辣椒实蝇 *B. latifrons* from India; 11 – 13: 日本辣椒实蝇 *B. latifrons* from Japan; 14: 桔小实蝇 *B. dorsalis*; 15: 颜带实蝇 *B. cilifer*; 16: 番石榴实蝇 *B. correcta*; 17: 锈实蝇 *B. rubigina*; 18: 瑞丽果实蝇 *B. ruiliensis*; 19: 杨桃实蝇 *B. carambolae*; 20: 普通果实蝇 *B. caudate*; 21: 瓜实蝇 *B. cucurbitae*; 22: 南瓜实蝇 *B. tau*; 23: 具条实蝇 *B. scutellata*; 24: $ddH_2O$.

综上所述,本研究所建立的 SS-PCR 快速鉴定辣椒实蝇的方法具有快速简便、特异性高、灵敏度高等优点,可以在 8 h 之内完成辣椒实蝇的鉴定,能够满足口岸检验检疫快速通关的要求。

致谢　本实验的供试实蝇类害虫标本均经过广东、福建、云南和新疆出入境检验检疫局的梁帆、黄可辉研究员、邓裕亮和张伟高级农艺师鉴定与提供,在此表示衷心感谢!

## 参考文献 (References)

Gu JL, 1996. *Bactrocera latifrons* was intercepted in passenger inspection by Liuhua Bureau. *Plant Quarantine*, 10(4): 251. [古菊兰, 1996. 流花局在旅检中截获辣椒实蝇. 植物检疫, 10(4): 251]

Huang KH, Guo QX, Yu Y, Weng RQ, 2005. The application of molecular marker methods in entomology. *Entomological Journal of East China*, 14(2): 109 – 114. [黄可辉, 郭琼霞, 虞赟, 翁瑞泉, 2005. 分子标记法在昆虫学研究中的应用. 华东昆虫学报, 14(2): 109 – 114]

Huang Z, Huang KH, 2008. Risk quantitative analysis for *Bactrocera latifrons* (Hendel) introduced to China. *Wuyi Science*, 24(1): 44 – 48. [黄振, 黄可辉, 2008. 锈腹实蝇的定量风险分析. 武夷科学, 24(1): 44 – 48]

Huang Z, Huang KH, 2009. The morphology, damage and quarantine countermeasures of quarantine pest – *Bactrocera latifrons*. *Wuyi Science*, (1): 21 – 23. [黄振, 黄可辉, 2009. 检疫性有害生物——辣椒实蝇的形态、危害与检疫对策. 武夷科学, (1): 21 – 23]

Liang GQ, Zhang SM, Xu W, 1989. Description of fruit flies in southern China with the 2 Chinese new records. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 11(3): 14 – 20. [梁广勤, 章士美, 徐伟, 1989. 我国南方部分地区实蝇记述及 2 种中国新记录. 江西农业大学学报, 11(3): 14 – 20]

Liang JB, Qin SJ, Zhao JW, 1995. *Bactrocera latifrons* was intercepted in imports of Thailand pepper. *Chinese Entry and Exit Animal and Plant Quarantine*, (1): 12. [梁静波, 秦双菊, 赵继文, 1995. 进口泰国辣椒中检出辣椒实蝇. 中国进出境动植检, (1): 12]

Liquido NJ, Harris EJ, Dekker LA, 1994. Ecology of *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) populations: host plants, natural enemies, distribution, and abundance. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(1): 71 – 84.

Meeyen K, Sopaladawan PN, Pramual P, 2014. Population structure, population history and DNA barcoding of fruit fly *Bactrocera latifrons* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Entomological Science*, 17(2): 219 – 230.

Mwatawala M, De Meyer M, White IM, Maerere A, Makundi RH, 2007. Detection of the solanum fruit fly, *Bactrocera latifrons* (Hendel) in Tanzania (Dipt., Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 131(7): 501 – 503.

Mwatawala M, Makundi R, Maerere AP, De Meyer M, 2010.

Occurrence of the solanum fruit fly *Bactrocera latifrons* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) in Tanzania. *Journal of Afrotropical Zoology*, 6: 83 - 89.

Peck SL, Mcquate GT, 2004. Ecological aspects of *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) on Maui, Hawaii: movement and host preference. *Environmental Entomology*, 33(6): 1722 - 1731.

Rwomushana I, Ekesi S, Gordon I, Ogol CKPO, 2008. Host plants and host plant preference studies for *Bactrocera invadens* (Diptera: Tephritidae) in Kenya, a new invasive fruit fly species in Africa. *Annals of the Entomological Society of America*, 101 (2): 331 - 340.

Wang ZH, Feng HL, Lv ZZ, Zhao H, Guo MX, Zhu TM, Zeng XD, Chen JJ, 2009. The research progress on detection technique of Tephritidae pests. *Hubei Plant Protection*, (2): 28 - 30. [王振华, 冯汉利, 吕志藻, 赵晖, 郭明星, 朱堂明, 曾宪东, 陈建军, 2009. 实蝇类昆虫检测技术研究进展. 湖北植保, (2): 28 - 30]

Wang ZH, Li JP, Zhao H, Zhu CC, Liu XJ, Chen JJ, 2008. *Bactrocera latifrons* was intercepted at Hubei port. *Plant Quarantine*, 22(5): 309. [王振华, 李金甫, 赵晖, 朱传才, 刘晓晶, 陈建军, 2008. 湖北口岸截获辣椒实蝇. 植物检疫, 22(5): 309]

Wu XY, Zhang L, Li WH, 2000. *Bactrocera latifrons* was intercepted by Zhuhai Bureau. *China Inspection and Quarantine*, (2): 38. [吴先佑, 章凌, 李伍华, 2000. 珠海局截获辣椒实蝇. 中国检验检疫, (2): 38]

Zhang QY, Lin ZJ, 1996. *Bactrocera latifrons* damage eggplant. *Plant Quarantine*, 10(3): 167. [张清源, 林振基, 1996. 辣椒果实蝇危害茄子. 植物检疫, 10(3): 167]

(责任编辑: 袁德成)